

Northumbria Research Link

Citation: Richardson, Alan, Coventry, Kathryn and Pasley, Jack (2016)
Микробиологическое осаждение кальцита: применение для залечивания трещин
(Microbiological deposition of calcite: crack sealing applications). Цемент И ЕГО
ПРИМЕНЕНИЕ (Cement and its Application). ISSN 1607-8837

Published by: Журнал Цемент

URL:

This version was downloaded from Northumbria Research Link:
<http://nrl.northumbria.ac.uk/id/eprint/28591/>

Northumbria University has developed Northumbria Research Link (NRL) to enable users to access the University's research output. Copyright © and moral rights for items on NRL are retained by the individual author(s) and/or other copyright owners. Single copies of full items can be reproduced, displayed or performed, and given to third parties in any format or medium for personal research or study, educational, or not-for-profit purposes without prior permission or charge, provided the authors, title and full bibliographic details are given, as well as a hyperlink and/or URL to the original metadata page. The content must not be changed in any way. Full items must not be sold commercially in any format or medium without formal permission of the copyright holder. The full policy is available online: <http://nrl.northumbria.ac.uk/policies.html>

This document may differ from the final, published version of the research and has been made available online in accordance with publisher policies. To read and/or cite from the published version of the research, please visit the publisher's website (a subscription may be required.)



**Northumbria
University**
NEWCASTLE



UniversityLibrary

Микробиологическое осаждение кальцита: применение для залечивания трещин

РЕФЕРАТ. В работе исследуются герметизирующие и залечивающие свойства кальцита, выделяемого и осаждаемого микробиологическим способом в трещинах цементных материалов в результате соответствующей обработки поверхности.

Для герметизации поровой структуры путем осаждением карбоната кальция использовались бактерии *Sporosarcina pasteurii*. Их помещали в жидкую питательную среду, необходимую для интенсивной выработки бактериями кальцита. Испытания, проведенные на серии из 24 бетонных кубов, обработанных такой жидкостью, позволили оценить влияние микробиологически осаждаемого кальцита (МОК) на степень укрепления поверхности. Для оценки состояния обработанной поверхности измеряли прибавку массы образцов и твердость материала по Моосу. Кроме того, на трех балках из фибробетона были созданы микротрещины с целью оценить способность *Sporosarcina pasteurii* к их залечиванию. Обнаружено, что отложения кальцита способны эффективно герметизировать трещины и упрочнять обработанную поверхность бетона. Описанная обработка бетона представляет собой органичный восстанавливающий метод, имеющий промышленное значение.

Ключевые слова: микробиологическое образование кальцита, *Sporosarcina pasteurii*, бетон, трещины, залечивание, бактерии.

Keywords: micro-induced calcite precipitation, *Sporosarcina pasteurii*, concrete, cracking, remedial methods, bacteria.

1.0. Введение

Бетон с его проблемами долговечности является неотъемлемой частью нашей урбанистической среды. Как и в случае любого строительного материала, постепенное бетона представляет собой ожидаемое явление, влияющее на срок службы конструкций. И камень, и бетон чувствительны к атмосферным воздействиям; разрушение минеральной матрицы приводит к увеличению пористости поверхности и создает многочисленные проблемы [1]. Отсутствие экономически эффективного и экологически приемлемого метода ремонта является причиной озабоченности: в США, например, ежегодные прямые затраты на техническое обслуживание и ремонт бетонных автомобильных мостов из-за коррозии арматуры составляют US\$ 4 млрд [2]. Коррозия стали является одним из следствий проникновения влаги в армированный бетон.

На рис. 1 сравниваются материалы рядового и высокого качества, используемые в инфра-

структуре, в отношении долговечности и затрат на изготовление и ремонт. Если же в качестве средства для ремонта использовать микробиологически осаждаемый кальцит (МОК), то рядовые недорогие материалы можно поддерживать в удовлетворительном состоянии.

Экстремальные погодные условия в настоящее время повсеместны, бетонные конструкции в условиях окружающей среды подвержены воздействию сил, которые приводят к повреждениям материала на микроуровне. Пористость бетона способствует распространению микротрещин. Это, в свою очередь, облегчает перенос жидкостей и газов, содержащих потенциально вредные вещества, способные повредить структуру [4]. Микротрещины — обычное явление в бетонных конструкциях; нормативный документ «Еврокод 2» допускает трещины шириной до 0,3 мм. Их необходимо герметизировать, чтобы остановить распространение повреждений, приводящее к дорогостоящим ремон-

тным работам. Трещины шириной до 0,05 мм не считаются опасными, так как бетон может самозалечиваться в результате расширения цементного теста; гидратации оставшегося, еще непрогидратированного цемента; осадения кристаллов карбоната кальция (CaCO_3); заполнения трещины примесями, содержащимися в воде, или частицами со стенок трещины [5]. Стоимость жизненного цикла зданий находится под более чем когда-либо пристальным вниманием; здания должны требовать меньшего технического обслуживания и иметь большую продолжительность жизни, чтобы считаться более экологичными [6], и в этом отношении МОК обеспечивает альтернативный способ ремонта, герметизации и восстановления с использованием природных экологических компонентов.

1.1. Причины повреждений и механизмы транспорта агрессивных сред

Долговечность бетона преимущественно зависит от того, насколько его поверхность непроницаема для жидких или газообразных сред. Бетон представляет собой пористый материал, количество, тип и размер пор которого влияют на его долговечность [7]. Разрушение поверхности бетона происходит в три стадии [8]: 1) иницирование, 2) развитие, 3) разрушение. Эти процессы вызваны различными механизмами.

Как уже отмечено, в обычных условиях эксплуатации железобетона образование в нем трещин до 0,3 мм — явление закономерное [9]. Трещины и на макро-, и на микроуровне развиваются в результате механического нагружения и циклов сорбции/десорбции влаги, после чего бетон разрушается из-за фильтрации воды [10]. Механизмы проникновения влаги представлены в табл. 1.

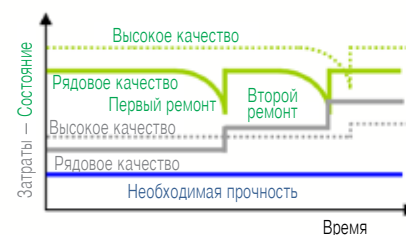


Рис. 1. Изменение качества материалов инфраструктуры по мере ее использования [3]

Таблица 1
Механизмы влагопереноса в бетоне [7]

Механизм	Комментарий
Диффузия	Движение ионов или молекул из области с их высокой концентрацией в область с низкой концентрацией
Поглощение	Возможность поглощения влаги бетоном обусловлена наличием доступного пространства в его микроструктуре
Перемещение влаги под действием градиента давления	Легкость, с которой влага перемещается в бетоне, определяется его проницаемостью

1.2. Традиционные методы ремонта

Большинство общепринятых, доступных методов ремонта в значительной степени основано на использовании экологически несовершенных материалов, таких как эпоксидные системы, акриловые смолы или полимеры на силиконовой основе [11]. Традиционные неорганические покрытия состоят из кальцево-силикатных соединений, которые имеют состав, подобный цементу [12]. Требования к ремонту бетонных конструкций изложены в BS EN 1504. На рис. 2 перечислены этапы ремонта дефектной бетонной конструкции. Он подразделяется на три основные категории:

- 1) структурный,
- 2) частично-структурный,
- 3) косметический.

В контексте данного исследования предлагается решить проблему только косметических восстановительных работ, которые предусматриваются европейской организацией «Бетонное сообщество» (The Concrete Society) в том случае, когда трещины не достигают арматуры и допустимо применение облегченных ремонтных материалов на цементной или полимерной основе. В отношении модуля упругости, ползучести и усадки эти материалы вряд ли будут обладать теми же свойствами, что и исходный бетон [13].

2. Материалы и бактерии

Составы бетонных смесей, использованные в настоящей работе, приведены в табл. 2. Различные значения В/Ц выбраны для создания различных пористости и качества повер-

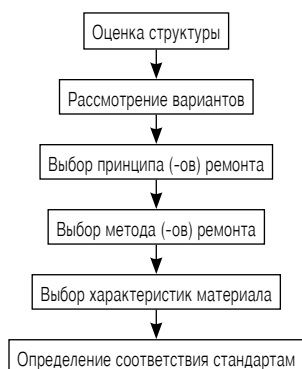


Рис. 2. Ремонт бетонной структуры (Взято из BS EN 1504)

ности. Тестируемая поверхность заглаживалась брусом, а затем ей была придана текстурированная структура.

Таблица 2
Состав смесей

Компонент	Содержание в 1 м³ смеси при соотношении В/Ц	
	0,8	0,4
СЕМ I 52.2 R, кг	170	337
Песок (размер зерен менее 4 мм), кг	652	482
Гравий (размер зерен менее 20 мм), кг	1522	1526
Вода, л	136,0	134,8

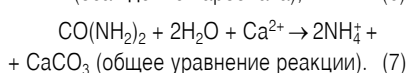
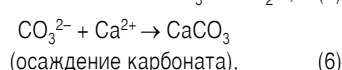
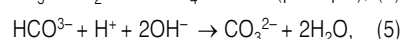
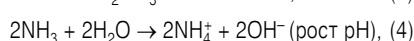
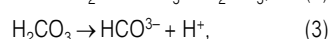
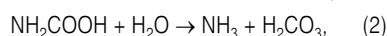
Когда бактериальный бульон наносится на кубики и балки, он не должен стекать с поверхности; поэтому по краям кубов укладывался слой силикона, удерживающий жидкость в пределах нужной площади поверхности. Точно так же удерживающий слой силикона наносили вокруг индуцированных трещин на балках.

2.1. Бактерии

Бактерии широко распространены, невероятно разнообразны и участвуют в осаждении минеральных карбонатов во всех видах природных сред [14]. Большинство бактерий представляют собой сферы (известны как кокки) либо палочки (известны как бациллы) [14].

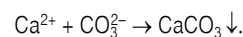
2.1.1. Осаждение кальцита бактериями. В природе довольно распространено явление, когда пористые среды уплотняются минералами, образующимися за счет микробной активности. Био-кальцификация, или МОК, представляет собой процесс, связанный с ферментом уреазой [5]. Микробиологический CaCO_3 может найти разнообразный спектр экологически безопасных применений. Он способен консолидировать поврежденные материалы, особенно в том случае, если имеются трещины [16]. В МОК задействован целый ряд бактерий, и этот процесс протекает в благоприятных для него условиях, к которым относится, в частности, щелочная среда, богатая ионами Ca^{2+} [17]. Отложения кальцита способны консолидировать материал и тем самым в принципе уменьшить проникновение в него влаги.

2.1.2. Уреолитическая активность. Бактерии, в которых гидролизует мочевина, наиболее изучены в отношении выработки кальцита. Этот процесс включает в себя такую последовательность реакций [14]:



Одна молекула мочевины гидролизует внутриклеточно до одной молекулы аммиака и одной молекулы карбамата (1); последняя затем самопроизвольно гидролизует с образованием дополнительной молекулы аммиака и углекислоты (2). В воде продукты этих реакций затем образуют гидрокарбонат, два иона аммония и два гидроксид-иона (3 и 4). Общее уравнение реакции описывает формула (7) [14]. В работе [18] отмечается, что для ускорения процесса необходима температура 22–32 °C.

2.1.3. Микробиологически индуцированное осаждение. Микробиологически индуцированное осаждение кальцита происходит более сложным путем [14]. В нем участвуют бактерии типа *Sporosarcina pasteurii* и уреазы, при этом требуется высокий уровень pH. В результате гидролиза мочевины, катализатором которого является указанный фермент, образуются CO_2 и аммиак. Как следствие, увеличиваются и pH бактериальной среды, и концентрация в ней карбоната [19]. Это приводит к осаждению кальцита в соответствии со следующим уравнением [14]:



2.1.4. Биовосстановление. Поверхность клетки бактерии может служить местом для нуклеации и отложения минералов [14]. Из всех форм жизни бактерии имеют наибольшее отношение площади поверхности к объему [20]. Поэтому они способны поддерживать образование карбоната кальция, как показано на рис. 3.

2.1.5. Осаждение кальцита в бетоне. С целью оценки эффективности осаждения кальцита в бетоне проведены многочисленные исследования. В работе [21] указано, что продукт осаждения может закупоривать поры носителя.

Sporosarcina pasteurii (первоначальное название этой бактерии — *Bacillus pasteurii*) может помочь в образовании уреазы, которая, в свою очередь, гидролизует мочевину до аммиака и CO_2 . Такая выработка уреазы из *Sporosarcina pasteurii* (*S. pasteurii*) отмечена в работе [15], по данным которой в сравнении с другими культурами микроорганизмов наибольшее количество этого фермента вырабатывалось бактерией *S. pasteurii* NCIM 2477 (рис. 4).

Согласно выводу авторов работы [13], микробиологическое осаждение минералов является перспективным способом повышения прочности бетона при сжатии, уменьшения проницаемости, снижения поглощения воды и проникновения хлоридов.

Авторы работы [22] поддержали эти выводы; предложенный ими биохимический восстанавливающий агент, содержащий споры щелочестойких почвенных бактерий *Bacillus alkalinitrilus* и лактат кальция, был в состоянии залечить трещины в бетоне при выдерживании в водопроводной воде в течение 100 сут. Отложения затем исследовали с использованием энергодисперсионной спектро-

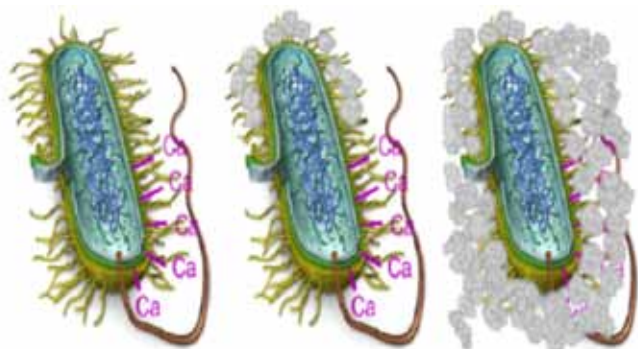


Рис. 3. Упрощенная схема уреолитического осаждения карбоната кальция [1]

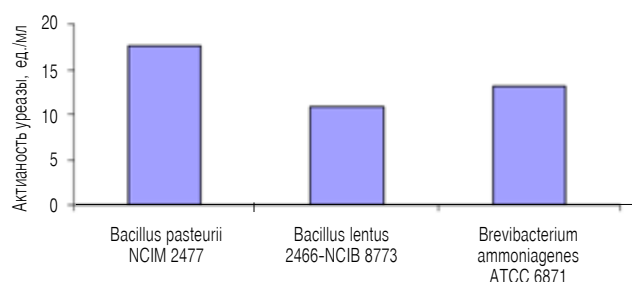


Рис. 4. Выработка уреазы различными бактериями [15]

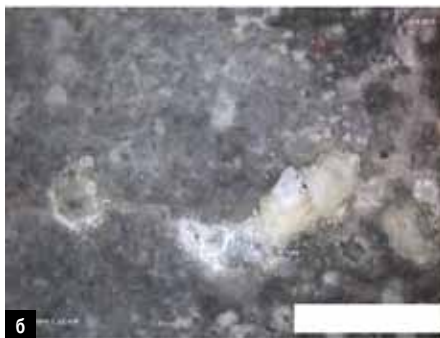
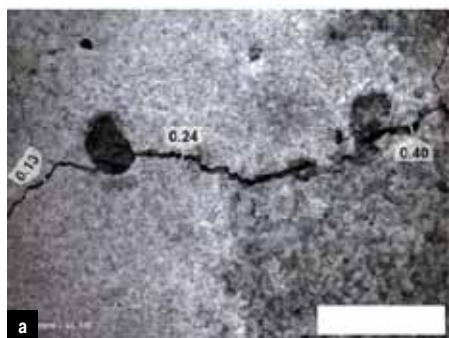


Рис. 5. Микрофотографии поверхности бетона до заливки трещины (а) и после ее заливки в течение 100 сут [22]. Числа на фото — толщина трещины, мм

скопии. Результаты подтвердили образование CaCO_3 , поскольку в отложениях (рис. 5) было установлено присутствие кальция, кислорода и углерода.

Бактерии *S. pasteurii* способны стабильно вырабатывать уреазу, что имеет первоочередное значение для осаждения CaCO_3 . Учитывая результаты работ [17, 23], можно полагать, что выбор этих бактерий в данном исследовании также окажется оптимальным решением.

3. Методология

Для оценки изменений структуры поверхности были изготовлены 24 бетонных куба с длиной ребра 100 мм. Варьировались соотношение В/Ц и качество поверхности (по два варианта); соответственно, в каждой серии было по шесть образцов. Для количественной

оценки осаждения кальцита образцы в высушенном состоянии взвешивали до и после эксперимента. Были отформованы и отверждены 3 бетонных балки, содержащих волокна; затем в них создали трещины путем трехточечного нагружения, вызывающего изгибающие напряжения. Вокруг трещин был нанесен слой силикона, чтобы создать резервуар для удержания жидкости, пока бактерии, находящиеся в питательной среде, производили кальцит.

Описанный процесс повторяли в общей сложности три раза, через каждые 24 ч. После того как бактерии и питательный бульон смешивали, кальцит образовывался практически сразу, и это главное достоинство применения данного способа его выработки. Указанный эффект отмечен и при предыдущих испытаниях [24].

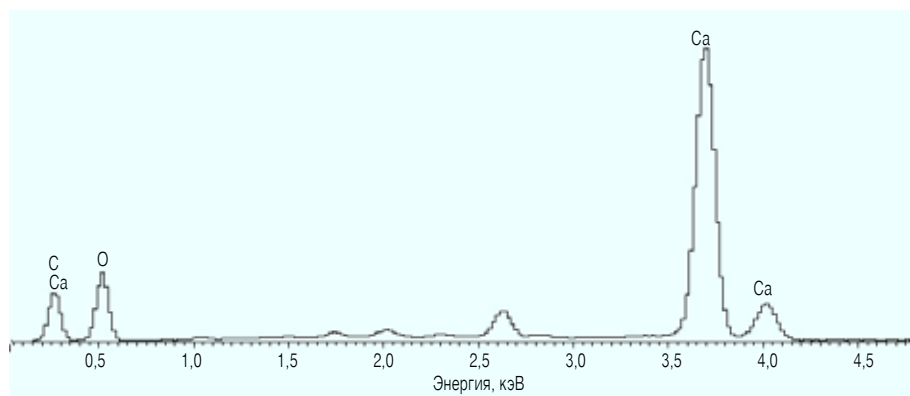


Рис. 6. Энергодисперсионный спектр поверхности образца

3.1. Подготовка бактериальной культуры и ее применение

Культуры *S. pasteurii* инкубировали в орбитальном инкубаторе при 37 °С при скорости вращения 200 об./мин. Затем измеряли оптическую плотность культуры, находящейся в измерительной ячейке, при длине волны пропускаемого через нее излучения, равной 600 нм (OD_{600}), чтобы увидеть, находится ли это значение в пределах желаемого диапазона (приблизительно 0,9—3,0). Более высокие значения OD_{600} соответствуют наличию большего числа активных центров для образования кальцита.

После подготовки культуры бактерий аликвоту 100 мл, содержащую бактерии, добавляли в 900-миллилитровый контейнер из боросиликатного лабораторного стекла Duran, содержащий питательный бульон и 50 мл раствора CaCl_2 с концентрацией 1 г/мл. Сразу же после этого приготовленную жидкость применили на трех участках балок и кубах. На куб наносили 15 мл жидкости, затем 1,5 мл мочевины, катализирующей реакцию и способствующей деятельности бактерий, что должно было привести к более высокому выходу кальцита.

4.0. Результаты

Бактериальный остаток изучали на поверхности образца и на участке контакта кальцита с бетоном, используя метод энергодисперсионной спектроскопии. Результаты представлены в табл. 3 и на рис. 6.

Таблица 3
Элементный состав отложения кальцита, масс. %

Участок	Кислород	Углерод	Кальций
Поверхность образца	58,0	17,5	24,5
Зона контакта	60,6	13,4	26,0

Твердость по Моосу образовавшегося кальцита была в пределах обычных значений, а испытание соляной кислотой показало, что материал имеет щелочной характер.

Масса высушенных образцов увеличилась по сравнению с исходными значениями в среднем на 3,6 г. Соотношение В/Ц не оказало влияния на среднее увеличение массы



Рис. 7. Микрофотографии балки с трещиной (а) и с трещиной, герметизированной за счет МОК (б)



Рис. 8. Растрескавшаяся (а) и восстановленная (б) бетонные балки

соответствующих образцов. Обработка поверхности привела к сглаживанию граней куба.

4.1. Герметизация трещины

Эффективность МОК в заливании трещин показана на рис. 7 и 8.

Выполненное исследование продемонстрировало потенциал бактерий *S. pasteurii* и, следовательно, потенциал МОК при ремонте бетона без использования химикатов на основе герметиков.

5. Заключение

При достижении средней оптической плотности OD_{600} , равной 2,1, при трехкратной обработке бетона были созданы участки нуклеации, на которых имело место МОК. Настоящее исследование подтверждает, что этот метод может служить в качестве альтернативы существующим способам и использоваться для оптимального ремонта бетонных конструкций, особенно теперь, когда серьезный акцент сделан на экологически сбалансированных строительных решениях. Эффект наложения кальцита виден на образцах в форме и кубов, и балок.

Хотя МОК не затрагивало слои, удаленные от поверхности, бактерии успешно заполнили большинство дефектов и пустот приповерхностного слоя образцов.

Неровные участки поверхности бетона также могут быть сглажены при помощи этого метода восстановления; хотя белый цвет кальцита может не подходить в эстетическом отношении и, следовательно, потребуются подходящие пигменты.

Что касается глубины проникновения кальцита, результаты исследования продемонстрировали почти 100 %-е заливание микротрещин глубиной примерно до 20 мм. Использование такой обработки может быть приемлемым в промышленном масштабе.

Изучение поверхности кубического образца позволило провести тщательный анализ кальцитовых образований. Отмечены увеличение массы образца и уменьшение дефектов в структуре его поверхности, а также консолидация последней с $CaCO_3$. Теоретически уменьшение пористости поверхностного слоя должно снизить скорость коррозии в ходе эксплуатации. Однако это можно подтвердить лишь путем дальнейших испытаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Muynck W., De Belie N., Verstraete W. Microbial carbonate precipitation in construction materials // *Ecological Engineering*. 2010. Vol. 36, N 2. P. 118–136.
2. Sierra-Beltran M.G., Jonkers H.M., Schlangen E. Characterization of sustainable bio-based mortar for concrete repair // *Construction and Building Materials*. 2014. Vol. 67. P. 344–352.
3. Schlangen E., Sangadji S. Addressing infrastructure durability and sustainability by self healing mechanisms — Recent advances in self healing concrete and asphalt // *Procedia Engineering*. 2013. Vol. 54. P. 39–57.
4. Van Tittelboom K., De Belie N., De Muynck W., Verstraete W. Use of bacteria to repair cracks in concrete // *Cement and Concrete Res.* 2010. Vol. 40, N 1. P. 157–166.
5. Stuckrath C., Serpell R., Valenzuela L.M., Lopez M. Quantification of chemical and biological calcium carbonate precipitation: Performance of self-healing in reinforced mortar containing chemical admixtures // *Cement and Concrete Composites*. 2014. Vol. 50. P. 10–15.
6. Srinivasan R.S., Ingwersen W., Trucco C., Ries R., et al. Comparison of energy-based indicators used in life cycle assessment tools for buildings // *Building and Environment*. 2014. Vol. 79, September. P. 138–151.
7. Basheer P.A.M., Barbhuiya S.A. Pore Structure and Permeability. 2010. P. 1–2.
8. Lambert P. Reinforced concrete — history, properties and durability // *Technical note*. Corrosion Prevention Association. 2002.
9. BRE. Corrosion of steel in concrete — durability of reinforced concrete structures. Digest 444 (P. 1). 2000. P. 2–9.
10. Rouchier S., Woloszyn M., Foray G., Roux J.-J. Influence of concrete fracture on the rain infiltration and thermal performance of building facades // *Intern. J. of Heat and Mass Transfer*. 2013. Vol. 61, June. P. 340–352.
11. Sierra-Beltran M.G., Jonkers H.M., Schlangen E. Characterization of sustainable bio-based mortar for concrete repair // *Construction and Building Materials*. 2014. Vol. 67. P. 344–352.
12. De Muynck W., Debrouwer D., De Belie N., Verstraete W. Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials // *Cement and Concrete Res.* 2008. Vol. 38, N 7. P. 1005–1014.
13. The Concrete Society. Repair of Concrete Structures with Reference to BS EN 1504. 2009.
14. Siddique R., Chahal N.K. Effect of ureolytic bacteria on concrete properties // *Construction and Building Materials*. 2011. Vol. 25, N 10. P. 3791–3801.
15. Sarda D., Choonia H.S., Sarode D.D., Lele S.S. Biocalcification by *Bacillus pasteurii* urease: a novel application // *J. of industrial microbiology & biotechnology*. 2009. Vol. 36, N 8. P. 1111–1115.
16. Wang J.Y., Soons H., Verstraete W., De Belie N. Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores // *Cement and Concrete Res.* 2014. Vol. 56. P. 139–152.
17. Ahal V., Pan X. Characterization of urease and carbonic anhydrase producing bacteria and their role in calcite precipitation // *Current microbiology*. 2011. Vol. 62, N 3. P. 894–902.
18. Zamarreco D.V., Inkpen R., May E. Carbonate crystals precipitated by freshwater bacteria and their use as a limestone consolidant // *Applied and environmental microbiology*. 2009. Vol. 75, N 18. P. 5981–5990.
19. Chahal N., Siddique R., Rajor A. Influence of bacteria on the compressive strength, water absorption and rapid chloride permeability of concrete incorporating silica fume // *Construction and Building Mater.* 2012. Vol. 37, December. P. 645–651.
20. Fortin D., Davis B.S., Beveridge T.J. Mineralization of bacterial surfaces // *Chemical Geology*. 1996. P. 132.
21. Stocks-fischer S., Galinat J.K., Bang S.S. Microbiological precipitation of $CaCO_3$ // *Soil Biology and Biochemistry*. 1999. P. 31.
22. Wiktor V., Jonkers H.M. Quantification of crack-healing in novel bacteria-based self-healing concrete // *Cement and Concrete Composites*. 2011. Vol. 33, N 7. P. 763–770.
23. Bang S.S., Galinat J.K., Ramakrishnan V. Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized *Bacillus pasteurii* // *Enzyme and Microbial Technology*. 2001. Vol. 28, N 4–5. P. 404–409.
24. Richardson A.E., Coventry K.A., Forster A., Jamison C. Surface consolidation of natural stone materials using microbial induced calcite precipitation // *Structural Survey*. 2014. Vol. 32, N 3. P. 265–278.